云锦杜鹃不同花期挥发性成分的HS-SPME-GC-MS检测与主成分分析

章辰飞，谢晓鸿，汪庆昊，王文静，王锦阳，谢宇，吴月燕*

（浙江万里学院生物与环境学院，浙江 宁波 315100）

摘 要：为了探究云锦杜鹃的挥发性成分，该研究采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术对云锦杜鹃不同花期中的挥发性成分进行定性定量分析，并通过主成分分析法分析其特征挥发性成分。结果表明：4个花期共检测出50种挥发性成分，共分为苯丙酸类/苯环型、萜烯类、醇类、醛类、烃类和其它类6大类组分。对29种主要挥发性物质进行主成分分析，提取了2个主成分，累计方差贡献率达到88.55%。分析发现，β-月桂烯、β-罗勒烯、可巴烯、异喇叭烯、桉树脑、衣兰烯、(+)-表二环倍半水芹烯、(3R-反式)-4-乙烯基-4-甲基-3-(1-甲基乙烯基)-1-(1-甲基乙基)-环己烯与第1主成分呈高度正相关，第2主成分的贡献率为31.45%，其中丁香酚的影响最大，呈高度负相关，这些物质是影响云锦杜鹃香气的关键性成分。在9种高度相关的物质中，萜烯类物质占了7种。综上认为，萜烯类物质是云锦杜鹃主要特征香气成分。

关键词：云锦杜鹃，不同花期，挥发性成分，主成分分析

中图分类号： Q946 **文献标识码：**A

Analysis of volatile compounds of *Rhododendron fortunei* at different flowering period by headspace solid-phase GC-MS and PCA

ZHANG Chenfei, XIE Xiaohong, WANG Qinghao, WANG Wenjing,
WANG Jinyang, Xie Yu, WU Yueyan*

(*College of biological and Environmental Sciences, Zhejiang Wanli University*, Ningbo 315100, Zhejiang, China)

Abstract: This study aimed to determine the volatile components emitted of *Rhododendron Yunjin* in different flowering stages by headspace solid phase microextraction-gas chromatograhy-mass spectrometry (GC-MS) as well as principal component analysis (PCA). A total of fifty

---

基金项目：浙江省一流学科"生物工程"学生创新项目(CX2018015)；浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划(2018R420022)；浙江省重中之重学科生物工程开放基金(1740002923)；宁波市科技重大专项(2014C11002) [Zhejiang Province's first-class discipline "bioengineering" student innovation project (CX2018015); Zhejiang University Students' Science and Technology Innovation Activity Plan (2018R420022); Zhejiang Provincial Key Discipline Bioengineering Open Fund (1740002923); Ningbo Science and Technology Major Project (2014C11002)]

作者简介：章辰飞(1995-)，女，浙江金华人，硕士研究生，植物生理与分子生物学，(E-mail) 362531264@qq.com。

*通信作者：吴月燕，硕士，教授，植物生理与分子生物学，(E-mail) m160109170@st.shou.edu.cn。

volatile components were detected throughout the wholeflowering stages, which were mainly phenylproanoids/benzenoids, terpenoids, alcohols, aldehydes, hydrocarbons and others.The principal component analysis of twenty-nine major volatile components was carried out, and the cumulative bution rate of the two principal components was 88.55%. β-myrcene, β-ocimene, copaene, isoledene, eucalyptol, ylangene, epi-bicyclosesquiphellandrene, cyclohexene, 4-ethenyl-4- methyl-3-(1-methylethenyl)-1-(1methylethyl)-,(3R-trans)- were highly positively correlated with PC1. The contribution rate of the second principal component is 31.45%, and the effect of Eugenol is the largest and highly negatively correlated. These components are the key aroma components of *Rhododendron fortunei* flowers. Of the nine highly related components, terpenes accounted for seven species. Therefore, the terpenoids were the major aromas constituents for *Rhododendron fortunei*.
Keywords: *Rhododendron fortunei*, different flowering periods, volatile component, principal component analysis(PCA)

花香是植物挥发性化合物的重要组成部分(Hu et al., 2017)，它由许多分子量低且易挥发的化合物混合而成(Inna et al., 2002)。对于观赏花卉而言，花香被认为是评价其品质的重要指标之一，被誉为“花卉的灵魂”(陈秀中等, 2001)，具有重要的商业价值。

杜鹃花是闻名于世的观赏花卉，也是我国三大名花之一，多用于景观绿化，素有‘本木花卉之王’的称号(陈新平等, 2003)，但极少数品种具有香味，且这部分资源尚未引起重视，研究报道也较少。云锦杜鹃(*Rhododendron fortunei*)主要生长在海拔 600~2 000 m 的山脊阳处或林下(杨彬等, 2018)，是中国特有的珍贵树种(何胜前, 2017)，在我国陕西、湖北、湖南、浙江、江西、福建、广西、贵州、云南等省（区）均有分布，其叶形大，花朵颜色鲜艳有香味，且抗性较强，易于人工栽培，具有较高的观赏价值(王书胜等, 2015)。

长期以来，国内外对杜鹃花香气成分的研究主要集中在挥发油的提取、分析鉴定及其活性的评价，对其挥发性成分分析的研究较少。因此，本研究采用 HS-SPME-GC-MS 联用技术并结合主成分分析法对云锦杜鹃不同花期的挥发性成分进行定性定量分析，旨在阐明云锦杜鹃的香气成分，为今后云锦杜鹃的深度开发利用提供一定的参考，以期提高其经济附加值。

1 材料与方法

1.1 试验材料

云锦杜鹃(*Rhododendron fortunei*)采自宁波四明山国家森林公园。根据花被片张开程度将杜鹃花发育阶段分为 4 个时期，花苞期(花被未张开)、半开期(花被片张开)、盛开期(花被片全部开放)、衰败期(花被片开始萎蔫)。

1.2 仪器

Mettler Toledo 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)；HP7890B GC system /5977A MSD GC-MS 联用仪(美国安捷伦科技公司)；手动固相微萃取装置，萃取纤维为 65 μm PDMS/DVB (美国 Supleco 公司)；加热磁力搅拌器(德国 IKA 公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 固相微萃取(SPME)样品处理

固相微萃取(SPME)纤维的种类及萃取条件对香气成分的吸附和分析有较大的影响，在本次试验中，通过优化 SPME 萃取条件，保证萃取纤维对云锦杜鹃花瓣的香气成分有最好的吸附效果(樊美余等, 2017)。本试验采用 65 μm PDMS/DVB SPME 纤维头分别吸附 4 个花期云锦杜鹃花瓣的香气成分。分别取 4 个花期的花瓣，剪碎后迅速称取 5 g 样品，放入 8 mL 顶空瓶中，密封，插入装有 65 μm PDMS/DVB SPME 纤维头进样器，25 ℃水浴下顶空萃取 1 h，磁力搅拌速度为 500 r min^{-1}，萃取结束后快速插入色谱仪进样口中，解析 5 min。每次进样前，萃取纤维需要在 GC 进样口 250 ℃下老化 10 min。每个样品进行 3 次生物学重复实验。

1.3.2 GC-MS 联用分析条件

利用 Agilent 7890B GC system/5977A MSD GC-MS 联用仪，参照 Natalia Dudareva 等(2003)方法，并略做修改。色谱条件：Agilent 19091S-433 色谱柱(30 m × 250 μm × 0.25 μm)，柱温 50 ℃；

进样口温度 250 ℃；柱内载气体积流量 1.0 mL min^{-1}；载气为高纯氦气(99.999 %)。升温程序为初始温度 40 ℃保持 2 min，以 3 ℃ min^{-1} 升温至 160 ℃，然后以 10℃ min^{-1} 升温至 200 ℃，最后以 20 ℃ min^{-1} 升至 300 ℃保持 3 min，不分流进样。

MS 条件：电子轰击离子源为 EI；离子源温度 230 ℃；接口温度 250 ℃；电子能量 70 eV；MS 四级杆温度 150 ℃；调谐 EMV 1149；溶剂延迟时间 2.6 min；扫描范围 15~500 Amu。

1.3.3 数据处理

定性分析：通过化学工作站数据处理系统检索及核对 NIST 和 WILEY 标准质谱图并结合有关文献(丛浦珠，1987)进行人工谱图解析，匹配度大于 80 (最大值 100)的鉴定结果才予以报道。

定量分析：采用峰面积归一化法确定各化学成分的相对含量。

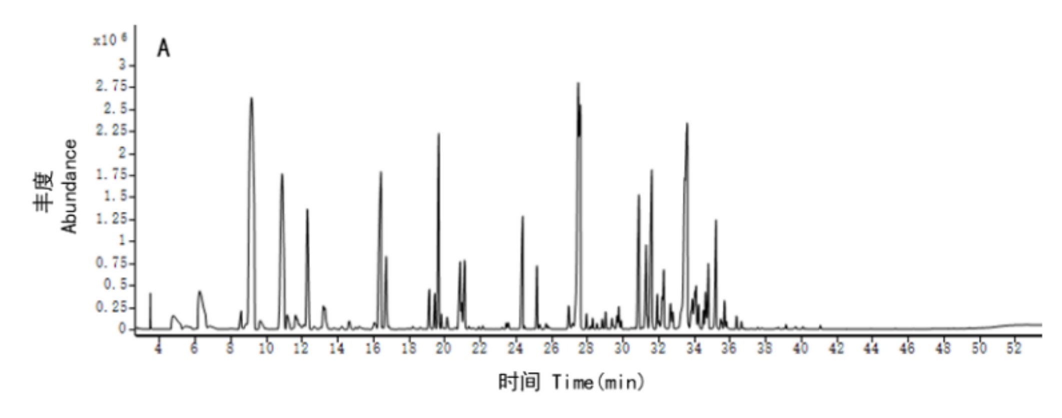
1.3.4 香气值的计算

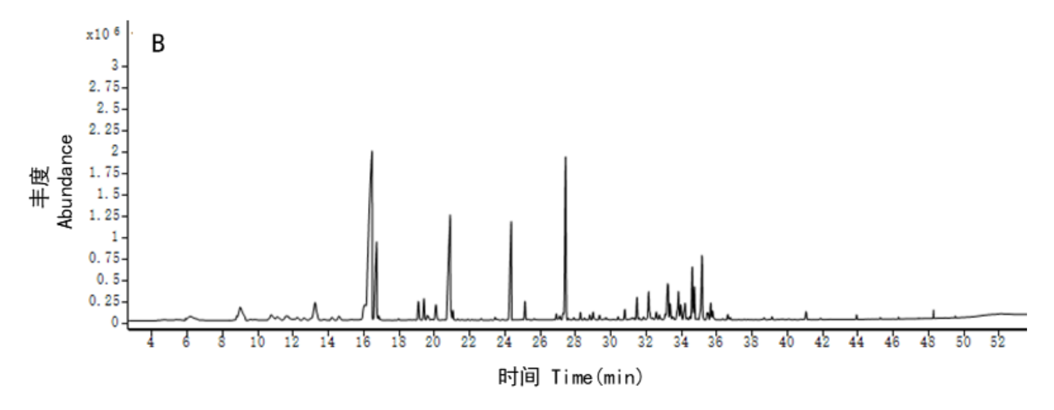
$$香气值 = \frac{香气物质的相对含量}{该物质阈值}$$

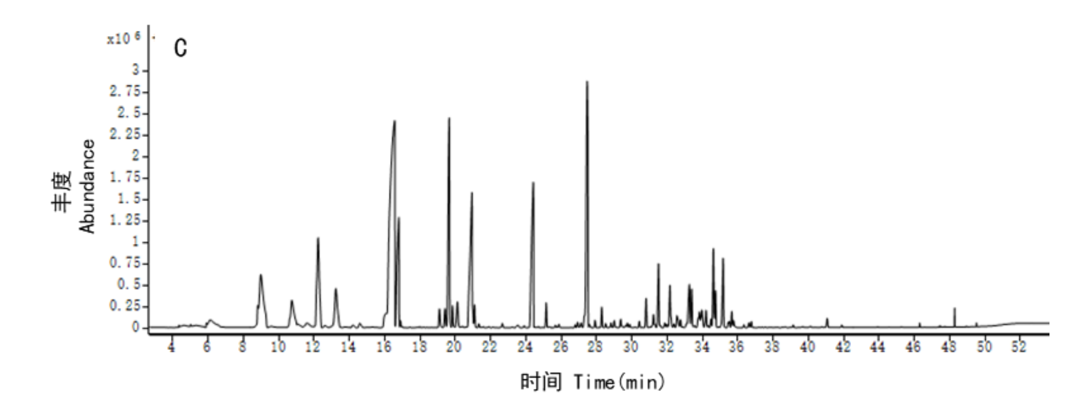
香气值>1，即为对样品香气具有贡献的特征香气组分，一般香气值越大，对样品香气的贡献就越大(秦军等, 2017)。

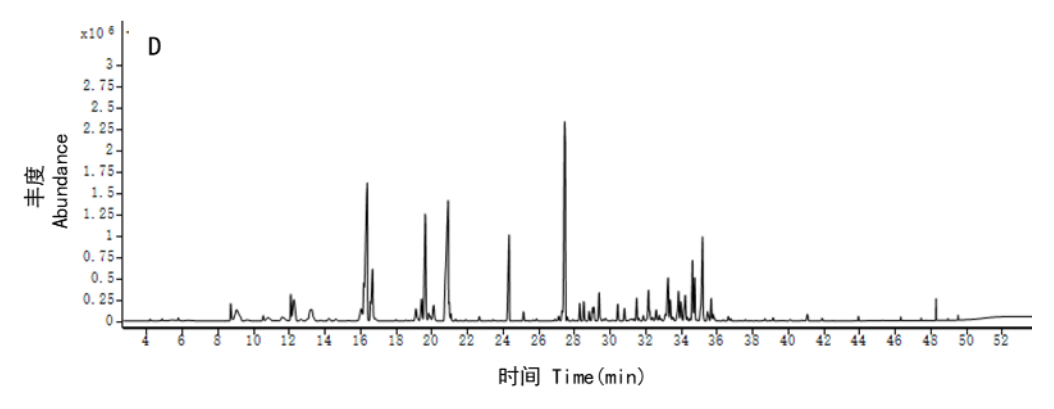
2 结果与分析

花蕾期、半开期、盛开期和衰败期云锦杜鹃花瓣的 GC-MS 总离子流色谱图(图 1)，其定性定量结果见表 1。









注：**A**. 花蕾期；**B**. 半开期；**C**. 盛开期；**D**. 衰败期。

Note: **A**. Bud stage; **B**. Middle opening stage; **C**. Full opening stage; **D**. Wilting stage.

图 1 ‘云锦’杜鹃不同花期的挥发性成分总离子流色谱图

Fig.1 Total ion current chromatograms of volatile compounds in *Rhododendron fortunei* during different flowering stages

表 1 云锦杜鹃不同花期挥发性成分相对含量

Table 1 Vlatile compounds and relative contents in *Rhododendron fortunei* during different flowering stages

化合物类别 Compound category	编号 Number	化合物名称 Name of compound	相对含量 Relative content (%)				香气特征 Characteristic aroma
			花蕾期 Bud stage	半开期 Middle opening stage	盛开期 Full opening stage	衰败期 Wilting stage	
苯丙酸类/苯环型 Phenylpropanoids /Benzenoids	1	苯甲酸甲酯 Methyl benzoate	13.59±0.97	32.91±1.58	48.75±0.68	28.83±1.95	尤南迦油和冬青油味 Anemona and wintergreen oil scent
	2	丁香酚 Eugenol	0.31±0.04	0.52±0.05	0.67±0.04	2.75±0.1	丁香味 Clove scent

	3	水杨酸甲酯 Methyl salicylate	0.82±0.15	1.5±0.03	1.66±0.14	—	冬青油味 Wintergreen oil scent
	4	2-甲氧基-6-(2-丙烯基)-苯酚 Phenol, 2-methoxy-6-(2-propenyl)-	—	—	1.07±0.16	—	N
		苯丙酸类/苯环型物质总和	14.72±1.04	34.41±1.57	52.15±4.52	31.58±2.04	
	5	β-蒎烯 β-pinene	—	—	1.53±0.24	—	花香味 Floral
	6	β-月桂烯 β-myrcene	—	1.07±0.24	0.64±0.06	0.45±0.05	花香味 Floral
	7	β-罗勒烯 β-ocimene	—	0.49±0.08	0.3±0.07	0.19±0.02	橙花油味 Neroli scent
	8	γ-松油烯 γ-terpinene	—	0.77±0.12	0.25±0.04	0.12±0	柑橘味 Citrus scent
	9	可巴烯 Copaene	—	0.68±0.13	0.63±0.02	0.44±0.05	N
	10	异喇叭烯 Isoledene	—	1.76±0.12	1.55±0.25	0.78±0.1	N
	11	马兜铃烯 Aristolene	—	0.71±0.09	0.86±0.05	1.02±0.12	N
萜烯类 Terpenoids	12	莰烯 Camphene	—	0.73±0.04	0.26±0.02	0.13±0.02	植物香 Plant scent
	13	桉树脑 Eucalyptol	1.01±0.1	4.11±1.9	3.46±0.32	2.81±0.39	N
	14	α-荜澄茄油烯 α-cubebene	—	0.92±0.06	0.28±0.02	—	辛香和樟脑味 Pungent and Camphor scent
	15	衣兰烯 Ylangene	—	0.3±0.02	0.35±0.08	0.2±0.03	N
	16	β-波旁烯 β-bourbonene	—	0.33±0.03	0.49±0.05	1.12±0.07	N
	17	γ-依兰油烯 γ-Muurolene	5.74±0.51	4.2±0.77	3.79±0.22	3.3±0.48	N
	18	(+)-表二环倍半水芹烯 (+)- Epi-bicyclosesquiphellandrene	—	1.09±0.08	0.49±0.03	0.35±0.03	N
	19	α-依兰油烯 α-Muurolene	0.85±0.07	4.02±0.84	1.27±0.21	0.99±0.01	N
		萜烯类物质总和	7.6±0.52	21.18±1.29	16.15±0.75	11.9±0.46	
	20	1-辛烷-3-醇 1-Octen-3-ol	1±0.16	0.61±0.16	0.46±0.06	—	N
	21	α-松油醇 alpha-Terpineol	2.97±0.23	15.65±1.15	10.38±0.83	20.87±0.64	丁香味 Clove scent
醇类 Alcohols	22	芳樟醇 Linalool	2.98±0.05	9.93±0.56	5.41±0.54	12.57±0.46	木青香味 Woody scent
	23	6,6-二甲基-双环[3.1.1]庚-2-烯-2-甲醇 Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-methanol,6,6-dimethyl-	2.63±0.09	—	—	0.48±0.04	N

	24	顺式-5-乙烯基四氢-α,5-三甲基-2-呋喃甲醇 2-Furanmethanol, 5-ethenyltetrahydro-alpha,alpha,5-trimethyl-, cis-	0.49±0.03	2.72±0.17	1.5±0.33	0.48±0.1	N
	25	6-乙烯基四氢-2,6,6-三甲基-2H-吡喃-3-醇 2H-Pyran-3-ol,6-ethenyltetrahydro-2,2,6-trimethyl-	—	1.68±0.1	1.02±0.06	—	N
	26	桃金娘烯醇 Myrtenol	—	0.57±0.07	0.88±0.06	—	N
	27	6-甲基-5-庚烯-2-醇 5-Hepten-2-ol,6-methyl-	—	—	—	0.83±0.05	N
	28	2,6-二甲基-1,7 辛二烯-3,6-二醇 1,7-Octadiene-3,6-diol,2,6-dimethyl-	—	—	—	0.28±0.01	N
	29	(3R,6S)-2,2,6-三甲基-6-乙烯基四氢-2H-吡喃-3-醇 (3R,6S)-2,2,6-Trimethyl-6-vinyltetrahydro-2H-pyran-3-ol	—	—	—	1.82±0.07	N
	30	(R)-3,7-二甲基-6-辛烯-1-醇 6-Octen-1-ol,3,7-dimethyl-,(R)-	—	—	—	0.42±0.01	N
	31	3,3,6-三甲基-1,5-庚二烯-4-醇 1,5-Heptadien-4-ol,3,3,6-trimethyl-	—	—	—	0.59±0.06	N
		醇类物质总和	10.07±0.62	31.16±1.99	19.65±1.39	38.34±2.27	
醛类 Aldehydes	32	己醛 Hexanal	2.5±0.28	—	—	1.08±0.1	青酸苹果香 Green apple scent
	33	2-己烯醛 2-Hexenal	5.58±0.31	—	—	—	N
	34	(E)-2-己烯醛 2-Hexenal,(E)-	1.23±0.15	2.25±0.13	3.5±0.08	0.26±0.01	N
	35	(E,Z)-2,6-壬二烯醛 2,6-Nonadienal, (E,Z)-	1.54±0.18	1.89±0.2	1.31±0.11	1.11±0.14	N
	36	(E)-2-壬烯醛 2-Nonenal,(E)-	1.23±0.13	2±0.18	—	—	N
		醛类物质总和	12.08±0.69	6.14±0.25	4.81±0.33	2.45±0.12	
烃类 Hydrocarbons	37	1,3,3-三甲基-三环[2.2.1.0(2,6)]庚烷 Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane,1,3,3-trimethyl-	25.76±1.49	4.57±0.63	3.96±0.15	—	N
	38	(1S)-6,6-二甲基-2-亚甲基-双环[3.1.1]庚烷 Bicyclo[3.1.1]heptane,6,6-dimethyl-2-methylene-,(1S)-	12.39±1.12	—	—	2.89±0.06	N

	39	1-甲基-3-(1-甲基亚乙基)-环己烷 Cyclohexane,1-methyl-3-(1-methylethylidene)-	0.45±0.06	—	—	—	N
	40	1-亚甲基-4-(1-甲基乙烯基)-环己烷 Cyclohexane,1-methylene-4-(1-methylethenyl)-	0.28±0.02	—	—	—	N
	41	1,7,7-三甲基-三环[2.2.1.0(2,6)]庚烷 Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane,1,7,7-trimethyl-	0.42±0.01	—	—	—	N
	42	4-亚甲基-2,8,8-三甲基-2-乙烯基 -双环[5.2.0]壬烷 Bicyclo[5.2.0]nonane,4-methylene-2,8,8-trimethyl-2-vinyl-	0.3±0.01	—	—	1.05±0.14	N
	43	1-乙烯基-1-甲基-2-(1-甲基乙烯基)-4-(1-甲基亚乙基)-环己烷 Cyclohexane,1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-	7.04±0.26	1.95±0.35	2.4±0.1	1.19±0.04	N
	44	二十一烷 Heneicosane	—	—	0.36±0.02	0.31±0.07	N
	45	(3R-反式)-4-乙烯基-4-甲基-3-(1-甲基乙烯基)-1-(1-甲基乙基)-环己烯 Cyclohexene,4-ethenyl-4-methyl-3-(1-methylethenyl)-1-(1methylethyl)-,(3R-trans)-	6.95±1.17	0.48±0.11	0.48±0.03	0.34±0.05	N
	46	(E,E)-1,5-二甲基-8-(1-甲基亚乙基)-1,5-环丁二烯 1,5-Cyclodecadiene,1,5-dimethyl-8-(1-	0.35±0.02	—	—	—	N
	47	(R)-1-甲基-5-(1-甲基乙烯基)-环己烯 Cyclohexene,1-methyl-5-(1-methylethenyl)-,(R)-	0.92±0.07	—	—	—	N
	48	(1R)-2,6,6-三甲基双环[3.1.1]庚-2-烯 (1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene	—	—	—	9.17±0.41	N
		烃类物质总和	54.86±4.47	7±0.45	7.2±0.56	14.95±0.88	N
其他 Others	49	己基氢过氧化物 Hydroperoxide, hexyl	0.35±0.05	—	—	—	N

50	甲氧基-苯基-肟 Oxime-, methoxy-phenyl-_	0.23±0.03	—	—	—	N
	其他类化合物总和	0.58±0.03				

注:"—"表示未检测到或不存在;"N"表示未查到;表中数据为平均值±标准差。下同。

Note: "—" means not detected or not existed; "N"menas not found ; Values as average ±SD. The same below.

2.1 云锦杜鹃主要挥发性成分的主成分分析

由表 1 可知共检测出 50 种化合物，其中 1-甲基-3-(1-甲基亚乙基)-环己烷(39)、1-亚甲基-4-(1-甲基乙烯基)-环己烷(40)、1,7,7-三甲基-三环[2.2.1.0(2,6)]庚烷(41)、(E,E)-1,5-二甲基-8-(1-甲基亚乙基)-1,5-环丁二烯(46)、(R)-1-甲基-5-(1-甲基乙烯基)-环己烯(47)、2-己烯醛(33)这 5 种物质仅在花苞期检测到;2-甲氧基-6-(2-丙烯基)-苯酚(4)、β-蒎烯(5)仅在盛开期检测到;6-甲基-5-庚烯-2-醇(27)、2,6-二甲基-1,7-辛二烯-3,6-二醇(28)、(3R,6S)-2,2,6-三甲基-6-乙烯基四氢-2H-吡喃-3-醇(29)、(R)-3,7-二甲基-6-辛烯-1-醇(30)、3,3,6-三甲基-1,5-庚二烯-4-醇(31)、(1R)-2,6,6-三甲基双环[3.1.1]庚-2-烯(48)这 6 种物质仅在衰败期检测到;(E)-2-壬烯醛(36)只在花苞和半开检测到;6,6-二甲基-双环[3.1.1]庚-2-烯-2-甲醇(23)、(1S)-6,6-二甲基-2-亚甲基-双环[3.1.1]庚烷(38)、4-亚甲基-2,8,8-三甲基-2-乙烯基-双环[5.2.0]壬烷(42)、己醛(32)这 4 种物质在半开期和盛开期无法检测到;这部分物质变异大，不进行主成分分析(赵国飞等, 2015)。因此，选取云锦杜鹃开花过程中存在的 29 种主要挥发性成分利用 SPSS 21.0 软件进行 PCA 分析，能更客观的反映其特征香气组分。

从表 2 和图 2 可以看出，特征值大于 1 的主成分有 3 个，第 1 主成分的贡献率 57.09 %，第 2 主成分的贡献率为 31.45 %，前两个主成分的累计贡献率已经达到 88.55%，可见第 1、第 2 两个主成分基本代表了样品主要挥发性成分的组成，反映了原始变量的绝大部分信息，达到了降维目的。因此，提取前 2 个主成分进行云锦杜鹃特征挥发性成分分析。

表 2 主成分的特征值及方差贡献率

Table 2 Eigen values of principal components and their variance contributions

主成份 Principal component	特征值 Eigenvalue	贡献率 Contribution rate(%)	累计贡献率 Cumulative contribution rate(%)
1	16.57	57.1	57.1
2	9.12	31.46	88.55
3	3.32	11.46	100

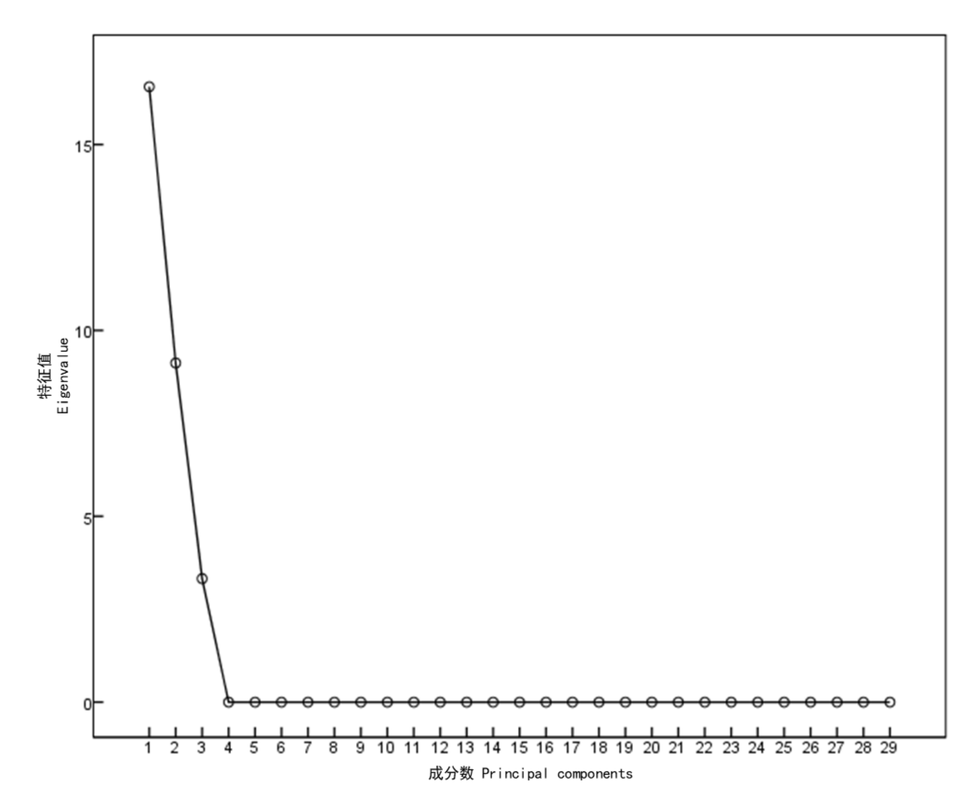


图 2 主成分的碎石图

Fig.2 Scree plot of principal component

表 3 主成分载荷矩阵

Table 3 Principal component loading matrix

编号 Number	化合物 Name of compound	主成份 Principal component	
		1	2
P1	苯甲酸甲酯 Methyl benzoate	0.765	-0.141
P2	丁香酚 Eugenol	0.084	-0.962
P3	水杨酸甲酯 Methyl salicylate	0.462	0.754
T1	β-月桂烯 β-myrcene	0.974	0.174
T2	β-罗勒烯 β-ocimene	0.971	0.209
T3	γ-松油烯 γ-terpinene	0.832	0.445
T4	可巴烯 Copaene	0.989	-0.074
T5	异喇叭烯 Isoledene	0.978	0.137
T6	马兜铃烯 Aristolene	0.763	-0.638
T7	莰烯 Camphene	0.851	0.426
T8	桉树脑 Eucalyptol	1	-0.006
T9	α-荜澄茄油烯 α-cubebene	0.774	0.571
T10	衣兰烯 Ylangene	0.94	-0.082
T11	β-波旁烯 β-bourbonene	0.354	-0.93
T12	γ-依兰油烯 γ-Muurolene	-0.716	0.692

T13	(+)-表二环倍半水芹烯 (+)- Epi-bicyclosesquiphellandrene	0.919	0.284
T14	α-依兰油烯 α-Muurolene	0.716	0.523
A1	1-辛烯-3-醇 1-Octen-3-ol	-0.47	0.882
A2	α-松油醇 alpha-Terpineol	0.65	-0.654
A3	芳樟醇 Linalool	0.574	-0.61
A4	顺式-5-乙烯基四氢-α,5-三甲基-2-呋喃甲醇 2-Furanmethanol,5-ethenyltetrahydro-alpha, alpha,5-	0.812	0.57
A5	6-乙烯基四氢-2,6,6-三甲基-2H-吡喃-3-醇 2H-Pyran-3-ol,6-ethenyltetrahydro-2,2,6-trimethyl-	0.834	0.55
A6	桃金娘烯醇 Myrtenol	0.713	0.355
AL1	(E)-2-己烯醛 2-Hexenal, (E)-	0.483	0.53
AL2	(E,Z)-2,6-壬二烯醛 2,6-Nonadienal, (E, Z)-	0.247	0.883
H1	1,3,3-三甲基-三环[2.2.1.0(2,6)]庚烷 Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane,1,3,3-trimethyl-	-0.836	0.548
H2	1-乙烯基-1-甲基-2-(1-甲基乙烯基)-4-(1-甲基亚乙基)-环己烷 Cyclohexane,1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-meth ylethylidene)-	-0.852	0.52
H3	二十一烷 Heneicosane	0.256	-0.745
H4	(3R-反式)-4-乙烯基-4-甲基-3-(1-甲基乙烯基)-1-(1-甲基乙基)-环己烯 Cyclohexene,4-ethenyl-4-methyl-3-(1-methylethenyl)-1-(1methy lethyl)-, (3R-trans)-	-0.907	0.416

注：**P**. 苯丙酸类/苯环型物质；**T**. 表示萜烯类物质；**A**. 醇类物质；**AL**. 醛类物质；**H**. 烃类物质。下同。

Note：**P**. Phenylpropanoids/benzenoids；**T**. Terpenoids；**A**. Alcohols；**AL**. Aldehydes；**H**. Hydrocarbons. The same below.

各变量与主成分之间的相关系数在载荷值上得以体现，其+/-符号表示其与主成分的正/负相关性(肖作兵等, 2017)，数值的绝对值越大，表明该指标与某一主成分的联系紧密程度越大，反映了该指标在该主成分上的载荷程度。由表 3 和图 3 可知，第 1 主成分中贡献最大的是 T8 桉树脑，其载荷值为 1，此外，影响较大的物质有 T1 β-月桂烯、T2 β-罗勒烯、T4 可巴烯、T5 异喇叭烯、T10 衣兰烯、T13 (+)-表二环倍半水芹烯、F4 (3R-反式)-4-乙烯基-4-甲基-3-(1-甲基乙烯基)-1-(1-甲基乙基)-环己烯，主要指向萜烯类物质，载荷值分别为 0.97、0.97、0.99、0.98、0.94、0.92、-0.91。PC1 与 T1 β-月桂烯、T2 β-罗勒烯等 7 种萜烯类物质呈高度正相关，与 F4 (3R-反式)-4-乙烯基-4-甲基-3-(1-甲基乙烯基)-1-(1-甲基乙基)-环己烯呈高度负相关。

第 2 主成分中影响最大的是 P2 丁香酚，载荷值为-0.96，呈高度负相关，其香味具有浓郁的丁香气味，是存在于芳香植物中的典型的香气成分(安阳, 2016)；T11 β-波旁烯的贡献也较大，载荷值为-0.93；正向影响香气成分较高的有 AL2 (E,Z)-2,6-壬二烯醛和 A1 1-辛烯-3-醇，载荷值都为 0.88。

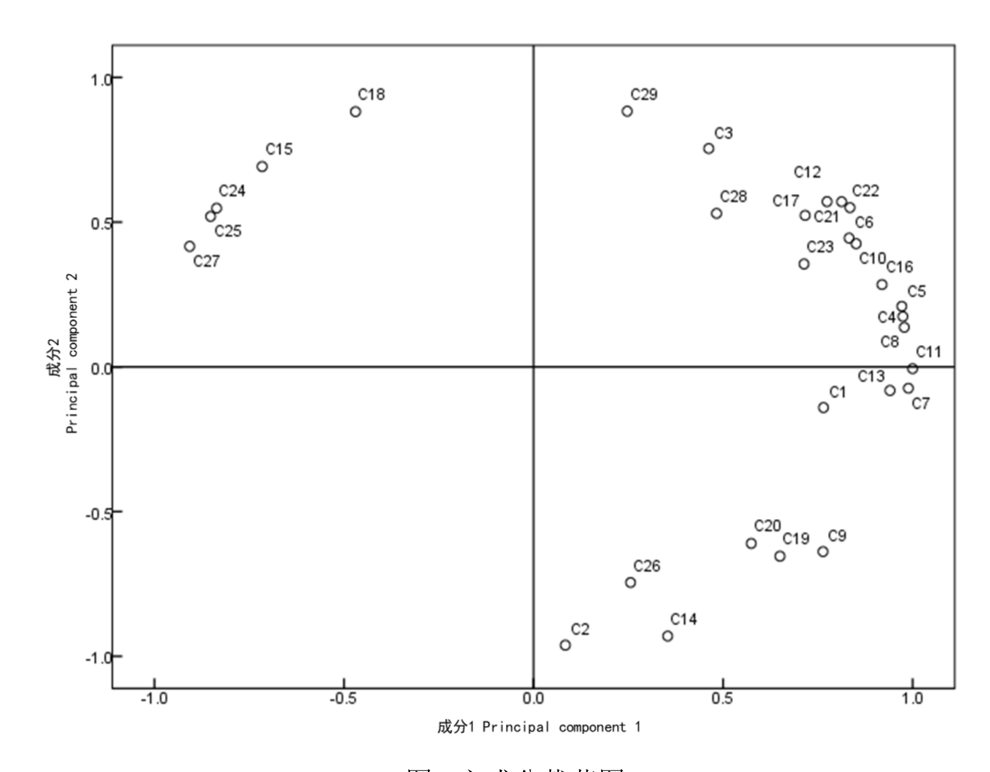


图 3 主成分载荷图

Fig.3 Biplot of principal component analysis (PCA)

2.2 第一主成分高度正相关萜烯类物质不同花期的动态变化

萜烯类化合物结构复杂，种类繁多(Muhlemann et al., 2014)，不仅是植物次生代谢产物中最大的一类，而且大都带有浓郁的甜香、花香和木香，是花香的重要组成部分(Hu et al., 2016)。桉树脑、β-月桂烯、β-罗勒烯属于单萜，可巴烯、异喇叭烯、(+)-表二环倍半水芹烯、衣兰烯属于倍半萜。由图 4 可知仅桉树脑在 4 个花期中都可检测出，其相对含量在半开期达到最高，为 4.11 %，随着花朵的发育桉树脑的相对含量开始下降，盛开期的相对含量比半开期下降了 0.65 %，在盛花期到衰败期的过程中相对含量也下降了 0.65 %，呈现出低-高-低的变化趋势；其余 6 种成分在花苞期未检测出，且相对含量呈现逐渐降低的趋势。

从表 4 可以看出桉树脑、β-月桂烯和 β-罗勒烯的香气阈值较低，且各成分不同花期中的香气值均大于 1，表明都是云锦杜鹃的特征香气成分。花蕾期仅有桉树脑这一种特征香气，香气值为 84.17 mg kg^{-1}。半开期中三种物质的香气值均达到最高，其中桉树脑的香气值是最低期(花蕾期)的 4 倍，β-月桂烯的香气值是最低期(衰败期)的 2.4 倍，β-罗勒烯的香气值是最低期(衰败期)的 2.6 倍。在半开期到盛开期这个过程中，三种物质的香气值开始下降，β-月桂烯香气值的下降速度最快，减少了 40.2 %，β-罗勒烯次之，减少了 38.8 %，桉树脑香气值的下降速度最慢，减少了 15.8 %。随着花朵的凋谢，衰败期中三种物质的香气值还是呈下降趋势，桉树脑的香气值下降至 234.17 mg kg^{-1}，β-月桂烯的香气值下降至 34.62 mg kg^{-1}，β-罗勒烯的香气值下降至 5.59 mg kg^{-1}。

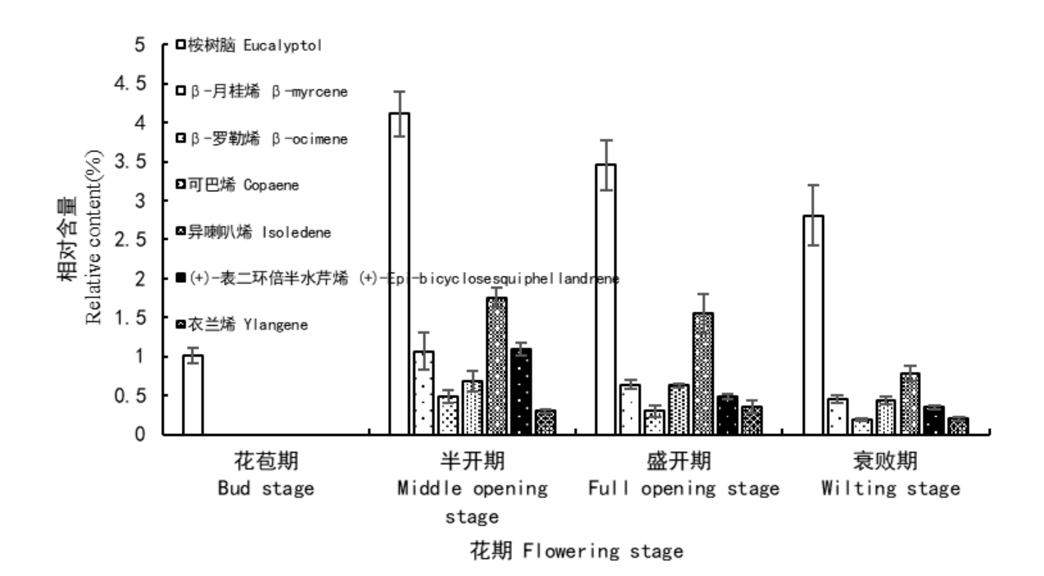


图 4 第一主成分高度正相关萜烯类物质不同花期相对含量的变化

Fig.4 Change of relative content of different flowering stages of terpenoids with highly positive correlation of the first principal component

表 4 第一主成分高度正相关萜烯类物质不同花期特征香气成分及香气值

Table 4 Aroma components and aroma values of different flowering stages of terpenoids with highly positive correlation of the first principal component

香气成分 Floral component	香气特征 Characteristic aroma	香气阈值 Aromatic thresholds (mg·kg^{-1})	香气值 Aromatic value			
			花蕾期 Bud stage	半开期 Middle opening stage	盛开期 Full opening stage	衰败期 Wilting stage
桉树脑 Eucalyptol	樟脑味 Camphor scent	0.012	84.17±9.68	342.5±45.28	288.33±27.84	234.17±33.45
β-月桂烯 β-myrcene	花香味 Floral	0.013	—	82.31±9.85	49.23±5.52	34.62±4.56
β-罗勒烯 β-ocimene	橙花油香味 Neroli scent	0.034	—	14.41±0.56	8.82±0.62	5.59±0.73

3 结论与讨论

植物发育阶段调控着花香化合物的释放，花香化合物的种类、数量和含量随着花朵的发育而逐渐升高，在授粉时达到高峰，之后随着花朵的凋谢显著下降，甚至改变了花香化合物的种类。4 个不同花期分别检测出 29、29、31、33 种香气化合物，由此可见香气化合物在数量上相差不大，但是各类香气化合物的相对含量存在一定差异。不同花期各类挥发性成分表现 4 种变化趋势，苯丙酸类/苯环型化合物和萜烯类化合物呈现出低-高-低的变化趋势，醇类化合物呈现出低-高-低-高的复杂变化，醛类化合物呈现出持续下降的趋势，烃类化合物呈现出高-低-高的变化趋势。

特征香气是由多种香气挥发性化合物互相作用的结果，各成分对香气的作用大小取决于香气值的大小(赵印泉等,2010)。桉树脑具有樟脑味是云锦杜鹃中相对含量较高的化合物，且香气阈值较低(0.012 mg·kg^{-1})，故香气值较高，是云锦杜鹃香气构成的重要化合物。β-月桂

烯具有花香味，在花蕾期未检测到该成分，在三个开花阶段的香气值分别为 82.31、49.23、34.62 mg kg^{-1}，对云锦杜鹃香气的构成也具有重要的作用。β-罗勒烯具有橙花油味，是较为普遍的花香成分之一，在柑橘花(李福香等, 2018)、百合(章毅颖等, 2018)、金鱼草(Natalia Dudareva et al., 2003)等花卉中均有发现。本实验中不同花期 β-罗勒烯的相对含量都低于 0.5 %，香气阈值比前两种物质高，为 0.034 mg kg^{-1}，所得香气值在 5.59~14.41 mg kg^{-1} 范围内，也是云锦杜鹃香气构成的重要成分。这些化合物是构成云锦杜鹃花香气的重要组成成分。

王维恩(2012)通过水蒸气蒸馏法提取青海杜鹃花的挥发油，结合气相色谱-质谱联用技术共检测出 62 种化合物，主要分为萜烯类、烃类及苯丙酸类/苯环型化合物，其中萜烯类所占相对含量最大，达到了 46.41 %；杨华等(2015)采用顶空固相微萃取法采集刺毛杜鹃花的挥发性成分，经 NIST 谱库检索只鉴定出 17 种化合物，其中萜烯类化合物（64.09 %）最多，烯烃类化合物（29.65 %）次之，芳香族化合物（6.25 %）最少；吴恒等(2015)通过无溶剂微波萃取法对西双版纳小叶杜鹃花的挥发油提取后结合 GC-MS 技术对其挥发性成分进行了分析，萜烯类化合物的相对含量高达 59.02 %。这些研究说明杜鹃花的花香成分以萜烯类化合物为主。本实验采用 HS-SPME-GC-MS 技术对云锦杜鹃不同花期的挥发性成分进行测定，共鉴定出 50 种成分，分为苯丙酸类/苯环型化合物、萜烯类化合物、醇类化合物、醛类化合物、烃类化合物和其它类化合物这 6 大类组分。对检测出的 29 种主要挥发性成分进行主成分分析，结果表明第 1 主成分的累积贡献率为 57.10 %，解释了云锦杜鹃香气的基本组成，其中载荷值较大的 8 种香气物质中有 7 种是萜烯类物质，且呈高度正相关，由此可见，萜烯类物质是云锦杜鹃主要特征香气成分，与前述报道一致。第 2 主成分中影响最大的是丁香酚，对香气的调节方面具有重要贡献。

植物花香挥发物中的许多萜烯类物质是植物精油的主要成分，同时也对人类健康有益，其商业价值巨大(岳跃冲等, 2011)，越来越受到实业界的重视，在食品、保健品、医药及化妆品等方面的应用研究也日渐趋多(李莹莹等, 2012)。本研究阐述了云锦杜鹃不同花期香气化合物的变化，可为其在香精香料等日用化工品、食品及保健品等方面的开发与利用提供基础数据和理论参考，但这些香气物质在云锦杜鹃中的释放机理还不明确，可在今后的研究中进行深入的探讨。

参考文献：

HU ZH, TANG B, WU Q, et al., 2017. Transcriptome Sequencing Analysis Reveals a Difference in Monoterpene Biosynthesis between Scented *Lilium* ‘Siberia’ and Unscented *Lilium* ‘Novano’ [J]. Frontiers Plant Sci, 8(4): 1-15.

HU ZH, LI TJ, Zheng J, 2016. A new monoterpene synthase gene involved in the monoterpene production from *Lilium* 'siberia'[J]. J Anim Plant Sci, 26(5): 1389-1398.

INNA G, MOSHE S, NAAMA M, et al., 2002. Rose Scent: Genomics Approach to Discovering Novel Floral Fragrance–Related Genes [J]. Plant Cell, 14: 2325–2338.

MUHLEMANN JK, KLEMPIEN A, DUDAREVA N, 2014. Floral volatiles: from biosynthesis to function [J]. Plant, Cell Environ, 37(8): 1936-1949.

NATALIA D, DIANE M, CHRISTINE MK, et al., 2003. (E)-β-Ocimene and Myrcene Synthase Genes of Floral Scent Biosynthesis in Snapdragon: Function and Expression of ThreeTerpene Synthase Genes of a New Terpene Synthase Subfamily [J]. Plant Cell, 15: 1239.

AN Y, 2016. Isolation and Characterization of Eugenol Synthase Genes in *prunus mume* ’Sanlunyudie’ [D]. Beijing: Beijing Forestry University. [安阳, 2016. 梅花丁子香酚合酶基因的克隆及功能分析[D]. 北京：北京林业大学.]

CONG PZ, 1987. Application of mass spectrometry in natural organic compounds[M]. Beijing:

Science and Technology Press: 21-89.[丛浦珠, 1987. 质谱在天然有机化合物中的应用[M]. 北京: 科学出版社: 21-89.]

CHEN XZ, WANG Q, 2001. Studies on Chinese principles in appreciating traditional flowers [J]. J Beijing For Univ, 23: 16-21. [陈秀中, 王琪, 2001. 中华民族传统赏花理论探微 [J]. 北京林业大学学报, 23: 16-21.]

CHEN XP, HE XD, HUANG YG, et al., 2003. Study on tissue culture of *Rhododendron simsii* Planch [J]. J Jiangsu For Sci Technol, 8(5):10-12,38. [陈新平, 何小弟, 黄永高, 等, 2003. 杜鹃花组织培养技术研究 [J]. 江苏林业科技, 8(5):10-12,38.]

FAN MY, CAO FF, XU M, et al., 2017. Volatile component analysis of five species of genus *Chimonanthus* leaves by HS-SPME/GC-MS [J]. Mol Plant Breed, 15(6): 2387. [樊美余, 曹福福, 徐萌, 等, 2017. HS-SPME-GC-MS 法分析 5 种蜡梅属植物叶片的挥发性成分 [J]. 分子植物育种, 15(6): 2387.]

HE SQ, 2017. Population distribution and protection strategies of *Rhododendron fortunei* in western Huoshan [J]. Modern Agric Technol, 19: 147-148.[何胜前, 2017. 霍山西部山区云锦杜鹃种群分布调查及保护对策 [J]. 现代农业科技, 19: 147-148.]

LI FX, MING J, AO M, et al., 2018, Determination and principal component analysis of volatile compounds in different parts of *Citrus reticulata Blanco*. flowers[J]. Food Mach, 34(10): 31-34. [李福香, 明建, 敖淼, 等, 2018. 柑橘花不同部位香气成分的测定及主成分分析[J]. 食品与机械, 34(10): 31-34.]

LI YY, 2012. Biosynthesis and Affecting Factors of Terpenes and Phenylpropanoids Volatiles in Plant Flowers[J]. Biotechnology, 22(2): 86-90. [李莹莹, 2012. 萜烯类与苯丙酸类花香挥发物的生物合成与调节[J]. 生物技术, 22(2): 86-90.]

QIN J, ZHANG M, PAN TF, et al., 2017. Analysis of aromatic compounds during four flowering stages in *Narcissus* spp.by GC-MS [J]. Subtrop Agric Res, 13(01): 41-45. [秦军, 张蒙, 潘腾飞, 等, 2017. 欧洲水仙 4 个花期香气成分的 GC-MS 分析 [J]. 亚热带农业研究, 13(1): 41-45.]

WANG SS, SHAN W, ZHANG LH, et al., 2015. Effects of media and IBA concentrations on rooting of *Rhododendron fortunei* for cutting propagation [J]. Sci Silv Sin, 51(9): 165-172. [王书胜, 单文, 张乐华, 等, 2015. 基质和 IBA 浓度对云锦杜鹃扦插生根的影响 [J]. 林业科学, 51(9): 165-172.]

WANG WE, 2018. Analysis of volatile constituents in flowers and leaves of Rhododendron qinghaiense by GC-MS[J]. Chin Trad Patent Med, 40(1): 147-151. [王维恩, 2018. 青海杜鹃花和叶中挥发性成分的 GC-MS 分析[J]. 中成药, 40(1): 147-151.]

WU H, WU YS, YIN PP, et al., 2015. Analysis of volatile components in *Rhododendron parvifolium* cultivated in Xishuangbanna[J]. Acta Agric Jiangxi, 27(5): 71-74. [吴恒, 吴雨松, 殷沛沛, 等, 2015. 西双版纳 小叶杜鹃花挥发性成分研究[J]. 江西农业学报, 27(5): 71-74.]

XIAO ZB, MA ST, NIU YW, 2017. Detection of the key aroma compounds of sweet orange oils by GC-O coupled with PCA [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 17(1): 253-256. [肖作兵, 马胜涛, 牛云蔚, 等, 2017. 气相色谱嗅闻技术结合主成分分析鉴定甜橙油特征香气成分[J]. 中国食品学报, 17(1): 253-256.]

YANG B, XU QW, NIU MY, et al., 2018. Analysis of SSR information in transcriptome and development of SSR molecular markers in *Rhododendron fortune* [J]. J Nucl Agric Sci, 32(12): 2335-2345. [杨彬, 许蔷薇, 牛明月, 等, 2018. 云锦杜鹃转录组 SSR 分析及其分

子标记开发 [J]. 核农学报, 32(12): 2335-2345.]

YANG H, SONG XZ, HAN SF, 2015. The volatile components of the buds and flowers of *Rhododendron championae*[J]. J Nanjing For Univ, 39(5): 180-182. [杨华, 宋绪忠, 韩素芳, 2015. 刺毛杜鹃花蕾与花的挥发性成分分析[J]. 南京林业大学学报, 39(5): 180-182.]

YUE QC, FAN YP, 2011.The terpene synthases and regulation of terpene metabolism in plants[J]. Acta Hortic Sin, 38(2): 379-388. [岳跃冲, 范燕萍, 2011. 植物萜类合成酶及其代谢调控的研究进展[J]. 园艺学报, 38(2): 379-388.]

ZHAO GF, LUO LY, CHANG R, et al., 2015. Aroma characteristics of jasmine during postharvest release of fragrance [J]. Food Sci, 36(18):121-126. [赵国飞, 罗理勇, 常睿, 等, 2015. 离体茉莉花释香过程的香气成分特征[J]. 食品科学, 36(18):121-126.]

ZHAO YQ, PAN HT, ZHANG QX, et al., 2010. Dynamics of fragrant compounds from *Prunus mume* flowers[J]. J Beijing For Univ, 32(4): 201-206. [赵印泉, 潘会堂, 张启翔, 2010. 梅花花朵香气成分时空动态变化的研究[J]. 北京林业大学学报, 32(4): 201-206.]

ZHANG YY, LI WQ, LÜ YM, 2018. Characterization of emitted volatiles and key genes in *Lilium longiflorum* × Asiatic[J]. Acta Hortic Sin, 45(4): 702-716. [章毅颖, 李雯琪, 吕英民, 2018. LA 杂交系百合特征花香释放规律及关键基因研究[J]. 园艺学报, 45(4): 702-716.]